



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<b>(51) Classification internationale des brevets <sup>5</sup> :</b>  A23L 1/23	<b>A1</b>	<b>(11) Numéro de publication internationale:</b> WO 93/04597  <b>(43) Date de publication internationale:</b> 18 mars 1993 (18.03.93)
<b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/FR92/00837 <b>(22) Date de dépôt international:</b> 1er septembre 1992 (01.09.92)  <b>(30) Données relatives à la priorité:</b> 91/10873 3 septembre 1991 (03.09.91) FR  <b>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> PERNOD RICARD [FR/FR]; 142, boulevard Haussmann, F- 75008 Paris (FR).  <b>(72) Inventeur; et</b> <b>(75) Inventeur/Déposant (US seulement) :</b> BRUNERIE, Pascal, Marc [FR/FR]; 17, rue des Marais, F-94440 Santeny (FR).  <b>(74) Mandataire:</b> AHNER, Francis; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).		<b>(81) Etats désignés:</b> JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, SE).  <b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>
<b>(54) Title:</b> PROCESS FOR THE PRODUCTION OF NATURAL VANILLA EXTRACT BY ENZYMATIC PROCESSING OF GREEN VANILLA PODS, AND EXTRACT THEREBY OBTAINED  <b>(54) Titre:</b> PROCEDE D'OBTENTION D'AROME NATUREL DE VANILLE PAR TRAITEMENT ENZYMATIQUE DES GOUSSES DE VANILLE VERTE ET AROME OBTENU  <b>(57) Abstract</b>  Process for the production of natural vanilla extract, consisting in processing crushed green vanilla pods by means of an enzymatic system capable of destroying plant cell membrane systems and hydrolyzing glycosylic precursors of volatile compounds. Preferably, the enzymatic system consists of one or more enzymes having a glucosidase activity, the number of glucosidase units per gram of green vanilla pods being between 20 and 500 units. The process substantially reduces the time for transforming the aromatic precursors of the pod, especially glucovanillin into vanillin with, moreover, an excellent yield. The present invention also concerns natural vanilla extract obtained by said process.  <b>(57) Abrégé</b>  La présente invention concerne un procédé d'obtention d'arôme naturel de vanille, consistant à traiter un broyat de gousses de vanille verte au moyen d'un système enzymatique capable de détruire les systèmes membranaires des cellules végétales et d'hydrolyser les précurseurs glycosylés des composés volatils. De préférence, ce système enzymatique est constitué d'une ou plusieurs enzymes possédant une activité glucosidase et le nombre d'unités d'activité glucosidase par gramme de gousse de vanille verte est compris entre 20 et 500 unités. Ce procédé permet de raccourcir considérablement le temps de transformation des précurseurs aromatiques de la gousse, en particulier de la glucovanilline en vanilline avec en plus un excellent rendement. La présente invention concerne également l'arôme naturel de vanille obtenu par ledit procédé.		

### UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	FI	Finlande	MN	Mongolie
AU	Australie	FR	France	MR	Mauritanie
BB	Barbade	GA	Gabon	MW	Malawi
BE	Belgique	GB	Royaume-Uni	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	GN	Guinée	NO	Norvège
BG	Bulgarie	GR	Grèce	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	HU	Hongrie	PL	Pologne
BR	Brésil	IE	Irlande	PT	Portugal
CA	Canada	IT	Italie	RO	Roumanie
CF	République Centrafricaine	JP	Japon	RU	Fédération de Russie
CG	Congo	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CH	Suisse	KR	République de Corée	SE	Suède
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	République slovaque
CM	Cameroon	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	SU	Union soviétique
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TD	Tchad
DE	Allemagne	MG	Madagascar	TG	Togo
DK	Danemark	ML	Mali	UA	Ukraine
ES	Espagne			US	Etats-Unis d'Amérique

PROCEDE D'OBTENTION D'AROME NATUREL DE VANILLE PAR TRAITEMENT ENZYMATIQUE DES GOUSSES DE VANILLE VERTE ET AROME OBTENU.

La présente invention concerne un procédé d'obtention d'arôme naturel de vanille par traitement des gousses de vanille verte. Elle concerne également l'arôme obtenu par le procédé.

5 L'arôme de vanille comprend principalement comme constituants, la vanilline, l'acide vanillique, l'acide para-hydroxybenzoïque et l'aldéhyde para-hydroxybenzoïque. Ces constituants sont pratiquement absents de la gousse verte, même mature, et ne se forment que lentement dans la gousse après la cueillette.

10 Sur un plan industriel, les extraits de vanille (comprenant notamment les différents constituants énumérés ci-dessus) sont obtenus à partir de gousses ayant subi successivement de façon habituelle un échaudage, c'est-à-dire une immersion pendant 3 minutes dans l'eau à 65°C, un étuvage, pendant lequel les gousses perdent leur eau et prennent leur couleur brune, et une étape de maturation finale. Un tel traitement s'étale  
15 sur une période d'environ 9 mois pendant lesquels de nombreux contrôles de la qualité des gousses sont effectués, ce qui entraîne une augmentation de son coût (Mémento de l'agronomie, 4<sup>e</sup> édition, Ministère de la coopération et du développement). Un tel procédé permet d'obtenir entre 20 et 30 g d'arôme de vanille par kilo de matière sèche de gousses.

20 L'apparition de l'arôme de vanille au cours de ce traitement est dû en partie à l'hydrolyse d'un précurseur glucosilé, la glucovanilline qui se trouve dans la gousse verte à une teneur telle que, 50 g de vanilline pourrait être obtenu au cours de son hydrolyse lente lors de la maturation (Arana. F.E, 1943, Food Research, vol 8, pages 343-351). Une décomposition  
25 microbienne ou enzymatique de la vanilline est probablement responsable de la perte importante observée durant ce traitement.

Afin de pallier les inconvénients liés à ce procédé, il a déjà été proposé par le brevet FR-A-2 634 979 de congeler à une température comprise entre -5°C et -30°C les gousses vertes, puis de les réchauffer  
30 avant d'en extraire les constituants de l'arôme. Ce procédé permet de recourir la maturation.

L'objet de la présente invention est de proposer un nouveau procédé qui permet de libérer la vanilline et les autres constituants aromatiques, contenus sous forme de glucosides dans la gousse verte.

5 Un autre objet de la présente invention est de proposer un procédé permettant d'obtenir un arôme de vanille avec un excellent rendement.

10 Selon la présente invention, le procédé d'obtention d'arôme naturel de vanille est caractérisé en ce que l'on traite un broyat de gousses de vanille vertes, au moyen d'un système enzymatique capable de détruire les systèmes membranaires de cellules végétales et d'hydrolyser les glucosides.

15 Le fait d'utiliser un broyat permet de faciliter l'attaque enzymatique des membranes des cellules. Il est donc clair que plus le broyage sera fin, plus l'attaque enzymatique en sera facilitée, compte tenu naturellement des contraintes liées à la mise en oeuvre industrielle d'un tel procédé. Par gousses vertes de vanille, on entend des gousses mures qui ont été fraîchement récoltées. En général, le procédé doit être mis en oeuvre quelques jours après la récolte, généralement entre 1 et 12 jours après celle-ci. L'utilisation du broyat brut évite par ailleurs toute étape  
20 d'extraction préalable.

Par système enzymatique capable de détruire les systèmes membranaires des cellules végétales, on entend tous les systèmes qui peuvent liquéfier les fruits, les légumes et en général toutes les cellules végétales pouvant servir d'aliment.

25 Avantageusement, on utilisera les systèmes enzymatiques particulièrement efficaces pour liquéfier les gousses de vanille verte.

De façon générale, on pourra utiliser une ou plusieurs préparations enzymatiques choisies parmi les pectinases, les cellulases, les hémicellulases ou les celliobiases, présentant une ou plusieurs activités  
30 glucosidases. Ces enzymes peuvent être utilisées seules ou en mélange.

De préférence, le système enzymatique devra comprendre une ou plusieurs enzymes possédant une activité glycosidase et notamment bêta-glucosidase. Ces enzymes sont bien connues de l'homme de métier et

de nombreux systèmes à base de celles-ci sont commercialement disponibles.

D'une façon générale, il est bien entendu, que l'invention couvre tous les systèmes enzymatiques et notamment ceux ayant une activité glucosidase qui permettent de libérer l'arôme de vanille potentiellement contenu dans les gousses vertes de vanille. L'homme de métier sera à même par des manipulations simples (comme celles par exemple illustrées dans les exemples qui seront décrits à la suite de la présente description), de choisir les systèmes enzymatiques qui conviennent.

Selon une caractéristique avantageuse du procédé selon l'invention et afin de faciliter le broyage, les gousses vertes sont hydratées puis broyées. Généralement sans que cela soit une condition essentielle de la présente invention la quantité d'eau que l'on pourra ajouter, sera équivalente au poids de matériel végétal. Avantageusement, le broyat est centrifugé, filtré et redilué à l'alcool éthylique.

Le système enzymatique comprend avantageusement 10 à 1000 unités d'activité bêta-glucosidase par gramme de gousses de vanille vertes, et de préférence de 20 à 500 unités d'activité enzymatiques bêta-glucosidase. On a constaté qu'un intervalle compris entre 40 et 400 unités d'activité enzymatique était encore plus avantageux pour la mise en oeuvre du procédé selon l'invention.

L'incubation est réalisée à un pH qui est avantageusement compris entre 3 et 7, et de préférence 4 et 6 et encore plus avantageusement aux environs de 5. Le pH naturel du broyat obtenu étant égal à 5, ce broyat est donc naturellement à la valeur optimale.

De préférence également, le procédé est mis en oeuvre sous agitation pendant une durée suffisante pour permettre la libération de l'arôme de vanille. Avantageusement, cette durée sera supérieure à 2 heures à température ambiante. Cette température pourra être augmentée ou diminuée tout en prenant garde d'une part, à ne pas dépasser une température limite pouvant conduire à une dégradation de l'arôme de vanille, et d'autre part à ne pas abaisser de manière trop sensible la température risquant alors de bloquer les réactions souhaitées. Elles sera comprise généralement entre 10 et 60°C, de préférence entre 30-40°C.

De façon avantageuse, la durée de l'incubation sera comprise entre 3 et 30 heures. On a constaté néanmoins, que la libération était généralement totale après quelques heures d'incubation, celle-ci pouvant être appréciée par l'homme de métier au moyen d'analyses en chromatographie liquide haute pression. Il est normalement conseillé de ne pas aller au delà de 24 heures.

Après incubation, la phase liquide contenant l'arôme de vanille, est séparée de la phase solide contenant notamment les résidus cellulaires insolubles. Cette séparation peut être effectuée par exemple, par filtration et/ou par centrifugation.

La phase liquide contenant l'arôme naturel de vanille peut ensuite être utilisée soit directement soit après concentration de l'extrait aromatique. Cette concentration peut être effectuée par évaporation, éventuellement sous vide puis filtration. Elle peut également être effectuée par extraction au solvant et évaporation subséquente de celui-ci. Les exemples ci-dessous illustrent l'invention sans toutefois la limiter :

Selon un mode opératoire général, les gousses vertes, après la récolte, sont broyées au mixeur après addition d'une quantité d'eau équivalente au poids de matériel végétal. L'incubation avec les enzymes est réalisée au pH naturel du broyat obtenu, c'est-à-dire à un pH de 5 environ sous agitation.

A la fin de la réaction, de l'alcool à 96 % est ajouté de façon à obtenir un milieu hydroalcoolique à 50 %. L'échantillon est ensuite filtré.

#### EXEMPLE 1 : ESSAIS SUR DIFFERENTS SYSTEMES ENZYMATIQUES

Plusieurs types de préparations enzymatiques industrielles ont été testées de façon à en sélectionner une ou plusieurs possédant une activité glucosidase importante et dont la spécificité pouvait permettre de libérer la vanilline et les autres constituants volatils.

Les essais sont effectués avec les systèmes enzymatiques suivants (le symbole u est l'unité d'activité glucosidase) :



A : sans système enzymatique (témoin)  
B : pectinase et bêta-glucosidase 50 u/mg  
C : pectineglucosidase et cellulase 17 u/mg  
D : pectineglucosadase 79 u/mg  
E : pectinase et hémicellulase 4455 u/mg

Après incubation, le broyat est centrifugé. L'analyse et la détermination de la quantité de vanilline sont réalisées par chromatographie en phase liquide (HPLC) sur le surnageant.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-après :

Type d'enzyme	Témoin sans enzyme.	A	B	C	D	E
Quantité de Vanilline en g/kg de matière végétale	0,355	0,319	1,3	3,19	1,5	6,5

L'enzyme E est une pectinase utilisée habituellement pour la liquéfaction des jus de fruit, celle-ci est la mieux adaptée à notre procédé. En effet, ses propriétés liquéfiantes permettent de détruire les systèmes membranaires de la cellule végétale libérant ainsi le contenu cytoplasmique permettant ainsi à l'activité glucosidase qu'elle contient de s'exprimer.

## EXEMPLE 2 : NOMBRE D'UNITES D'ENZYMES

On a déterminé la quantité de préparation enzymatique optimum pour la libération de l'arôme. Cette activité est déterminée à 30°C en milieu tamponné citrate phosphate pH = 5 à partir du p.nitrophenyl glucoside comme substrat, sur le système enzymatique E, une unité d'activité correspondant à l'hydrolyse d'une micromole de substrat par minute.

Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessus :

5	Quantité d'enzymes en unité d'activité /kg de gousses vertes x 10 <sup>3</sup>	0	90	220	310	450
10	Quantité de Vanilline en g/kg de gousses vertes obtenue après 20 h d'incubation	1,5	2,9	3,5	3,6	3,5

- 15 Ce tableau montre que l'activité optimum se situe autour de 220 unités d'activité enzymatique pour 1 g de gousse verte mis en oeuvre.

### EXEMPLE 3 : DUREE D'INCUBATION

- 20 Différents prélèvements au cours du temps ont été effectués de façon à déterminer le temps d'incubation nécessaire à l'obtention d'une teneur maximale en vanilline libre dans le milieu. A 50 g de gousses vertes broyées dans 50 cc d'eau, sont ajoutées  $12 \times 10^3$  unités d'activité glucosidase (système E). Les résultats ci-dessous montrent que la quantité
- 25 maximum de vanilline libre dans le milieu est atteinte après environ 7 heures d'incubation.

#### Incubation à 30°C

30	Temps d'incubation	TO	1H	2H	4H	8H	10H	25H
35	Quantité de vanilline en g/kg	1,1	1,4	1,7	2,2	2,9	3,2	3,4



Incubation à 37°C

Temps d'incubation	TO	1H	2H	4H	6H	25H	
Quantité de vanilline en g/kg	1,1	2,3	2,9	3,6	3,9	4	

Les figures 1 et 2 annexées illustrent pour le dernier exemple, le chromatogramme obtenu après 20 heures sans système enzymatique (figure 1) et avec système enzymatique (figure 2).

Les méthodes d'analyse ont été les suivantes pour les exemples ci-dessus :

De l'alcool à 96 % est ajouté de façon à obtenir un milieu hydroalcoolique à 50 %.

L'échantillon de milieu est filtré et injecté directement en HPLC.

Appareil : Hewlett Packard 1090, détecteur UV  
Colonne Hewlett Packard ODS Hypersil  
Solvant A : Tampon citrate phosphate pH : 4,66  
Solvant B : acétonitrile  
Débit : 0,3 ml/min.  
Absorption à 300 nm

Gradient : TO : 0 % de solvant B  
10' : 15 % " " " " " "  
15' : 80 % " " " " " "  
20' : 10 % " " " " " "

Les figures 1 et 2 annexées sont des chromatogrammes de broyat de gousses vertes.

Figure 1: Chromatogramme à 300 nm du broyat de gousses vertes, témoin sans enzymes.

G : Glucovanilline, V : Vanilline

P : Parahydroxy benzaldehyde.

Figure 2: Chromatogramme à 300 nm du broyat de gousses vertes, après 20 H d'incubation en présence d'enzyme :

G : Glucovanilline, V : Vanilline

P : parahydroxy benzaldehyde.

5

10

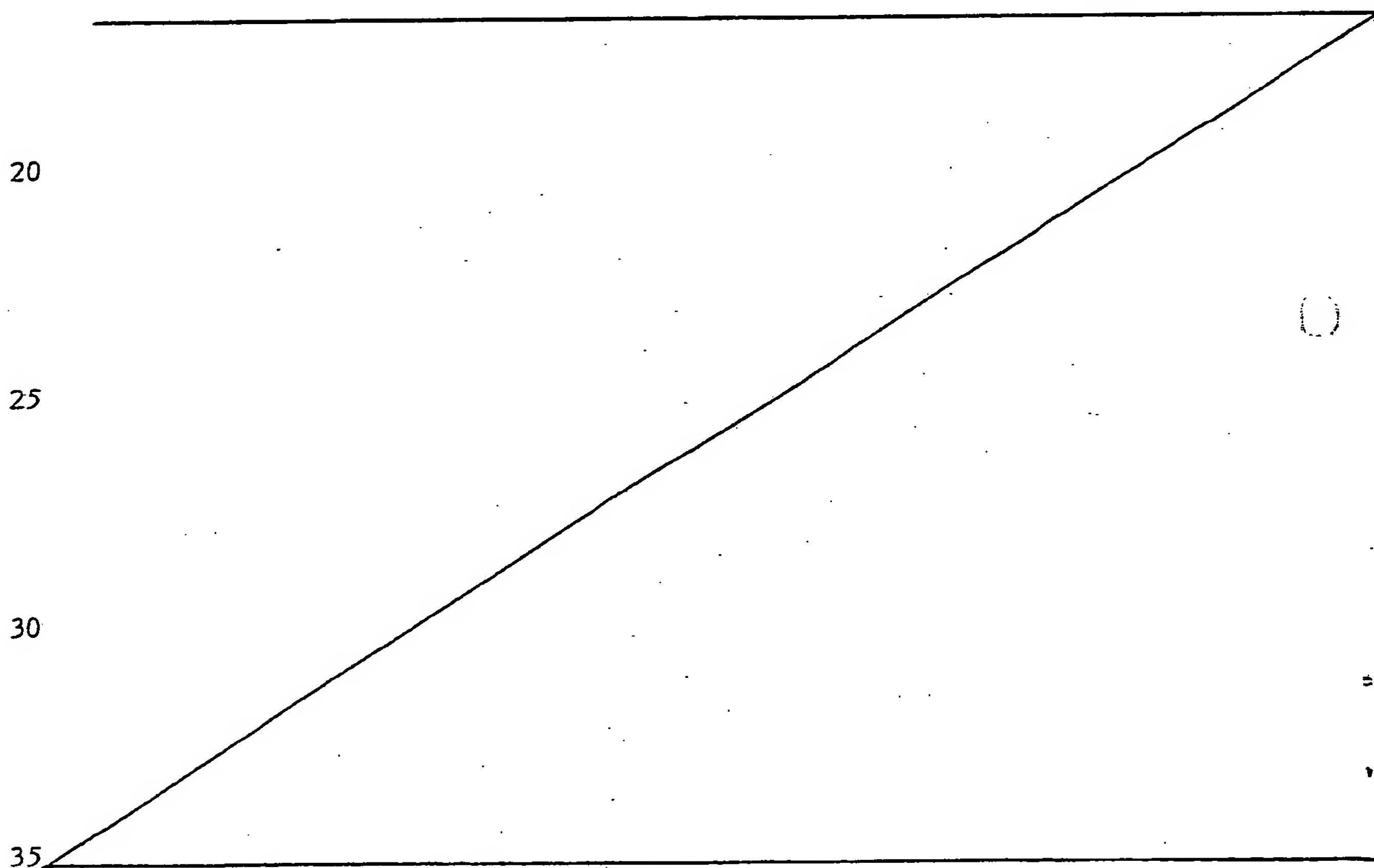
15

20

25

30

35



### REVENDICATIONS

1. Procédé d'obtention d'arôme naturel de vanille, caractérisé en ce que l'on traite un broyat de gousses de vanille verte au moyen d'un système enzymatique, capable de détruire les systèmes membranaires des cellules végétales et d'hydrolyser les glucosides.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le système enzymatique est constitué d'une ou plusieurs enzymes possédant une activité glucosidase.

3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que les enzymes sont choisies parmi le groupe suivant : les pectinases, les cellulases, les hémicellulases ou les exoglycosidases, comme les celliobiasés.

4. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'on utilise 20 à 500 unités d'activité enzymatiques par gramme de gousse de vanille verte.

5. Procédé selon l'une des revendications précédentes caractérisé en ce que le pH est compris entre 3 et 7, de préférence environ 5.

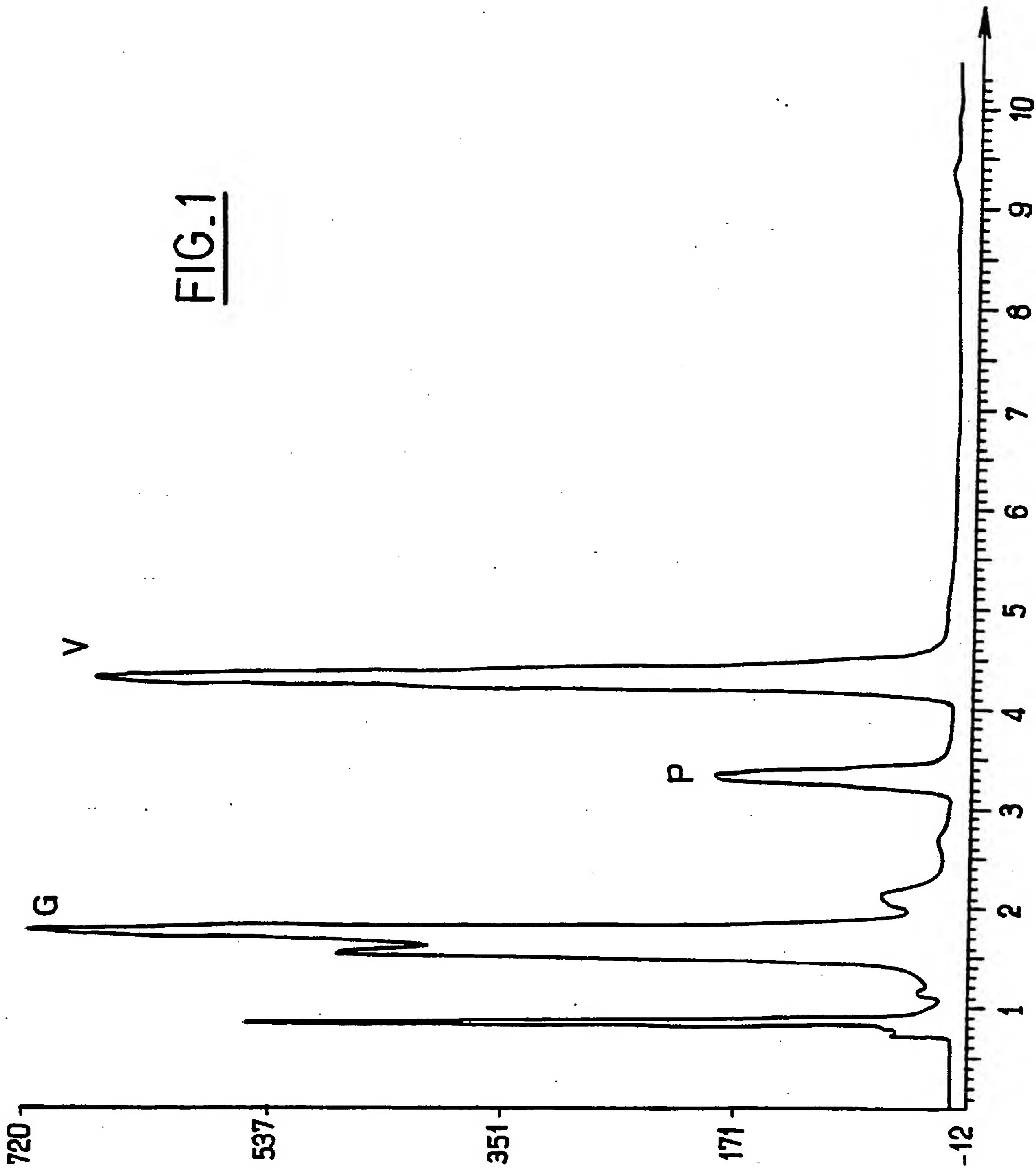
6. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la durée d'incubation du mélange de broyat et du système enzymatique est supérieure à deux heures, de préférence entre 3 et 30 heures.

7. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que les gousses vertes sont hydratées avant broyage.

8. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la phase liquide est séparée de la phase solide, la phase liquide étant ensuite récupérée, l'extrait aromatique étant éventuellement isolé.

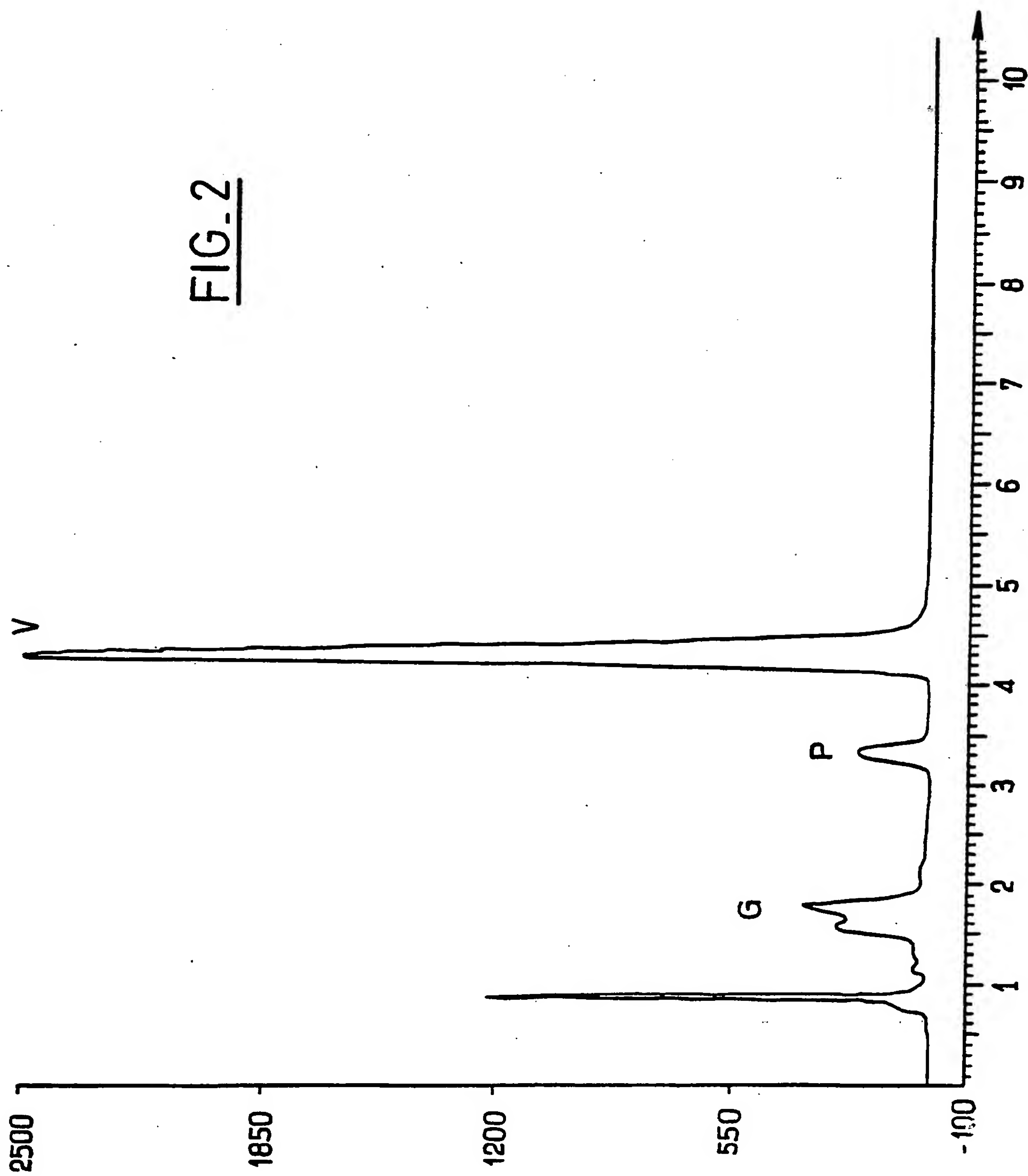
9. Arôme naturel de vanille obtenu selon la procédé de l'une des revendication 1 à 8.

FIG.1



2 / 2

FIG. 2



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR92/00837

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl. 5 A23L1/23

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl. 5 A23L; C12P; C11B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR,A,1 156 084 (MC CORMICK) 12 May 1958 see page 1, column 2, paragraph 6 see page 2, column 1, paragraph 5 - paragraph 7 see page 2, column 2, paragraph 5 see page 3, column 1, paragraph 5 - column 2, paragraph 2 ---	1,2,7-9
Y	DATABASE WPIL Section Ch, Week 8316, Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D, AN 83-38370K & JP,A,58 043 757 (HASEGAWA) 14 March 1983, see abstract ---	1-9
Y	EP,A,0 416 713 (GIST-BROCADES ET I.N.R.A.) 13 March 1991, see page 31, line 14 - line 32 see claims ---	1-9
A	FR,A,2 625 750 (FLAVOTOP BIOSYSTEMS) 13 July 1989 see claims ./...	1,2,3,5-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

### Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 October 1992 (14.10.92)

Date of mailing of the international search report

09 November 1992 (09.11.92)

Name and mailing address of the ISA/

EUROPEAN PATENT OFFICE

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR92/00837

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR,A,2 443 265 (J.-M.COTTE) 4 July 1980 see the whole document	1,2,3,5-9
A	EP,A,0 332 281 (GIST-BROCADES ET I.N.R.A.) 13 September 1989, see claims	1,2,3,5-9
A	FR,A,2 634 979 (ELF AQUITAINE) 9 February 1990 cited in the application, see the whole document	1
A	FOOD RESEARCH 1943, pages 343-351 F.E.ARANA 'Action of a beta-glucosidase in the curing of vanilla', cited in the application see the whole document	1

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 9200837  
SA 64344

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 14/10/92

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR-A-1156084		None	
EP-A-0416713	13-03-91	AU-A- 6338990 WO-A- 9103174 JP-T- 4502863	08-04-91 21-03-91 28-05-92
FR-A-2625750	13-07-89	None	
FR-A-2443265	04-07-80	None	
EP-A-0332281	13-09-89	FR-A- 2628439 AU-B- 618588 AU-A- 3204189 WO-A- 8908404	15-09-89 02-01-92 05-10-89 21-09-89
FR-A-2634979	09-02-90	EP-A- 0354118 US-A- 4956192	07-02-90 11-09-90

**I. CLASSEMENT DE L'INVENTION** (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) <sup>7</sup>

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**CIB 5 A23L1/23**

**II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée<sup>8</sup>

Système de classification	Symboles de classification
<b>CIB 5</b>	<b>A23L ; C12P ; C11B</b>

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté

**III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**<sup>10</sup>

Catégorie <sup>9</sup>	Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, <sup>12</sup> des passages pertinents <sup>13</sup>	No. des revendications visées <sup>14</sup>
<b>X</b>	FR,A,1 156 084 (MC CORMICK) 12 Mai 1958 voir page 1, colonne 2, alinéa 6 voir page 2, colonne 1, alinéa 5 - alinéa 7 voir page 2, colonne 2, alinéa 5 voir page 3, colonne 1, alinéa 5 - colonne 2, alinéa 2 ---	1, 2, 7-9
<b>Y</b>	DATABASE WPIL Section Ch, Week 8316, Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D, AN 83-38370K & JP,A,58 043 757 (HASEGAWA) 14 Mars 1983 voir abrégé ---	1-9
<b>Y</b>	EP,A,0 416 713 (GIST-BROCADES ET I.N.R.A.) 13 Mars 1991 voir page 31, ligne 14 - ligne 32 voir revendications --- -/-	1-9

<sup>11</sup> Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document antérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.
- "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

**IV. CERTIFICATION**

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

**14 OCTOBRE 1992**

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

**09. 11. 92**

Administration chargée de la recherche internationale

**OFFICE EUROPEEN DES BREVETS**

Signature du fonctionnaire autorisé

**VAN MOER A.M.J.**

III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS <sup>14</sup>		(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUEES SUR LA DEUXIEME FEUILLE)
Catégorie °	Identification des documents cités, <sup>16</sup> avec indication, si nécessaire des passages pertinents <sup>17</sup>	No. des revendications visées <sup>18</sup>
A	FR,A,2 625 750 (FLAVOTOP BIOSYSTEMS) 13 Juillet 1989 voir revendications ---	1,2,3, 5-9
A	FR,A,2 443 265 (J.-M.COTTE) 4 Juillet 1980 voir le document en entier ---	1,2,3, 5-9
A	EP,A,0 332 281 (GIST-BROCADES ET I.N.R.A.) 13 Septembre 1989 voir revendications ---	1,2,3, 5-9
A	FR,A,2 634 979 (ELF AQUITAINE) 9 Février 1990 cité dans la demande voir le document en entier ---	1
A	FOOD RESEARCH 1943, pages 343 - 351 F.E.ARANA 'Action of a beta-glucosidase in the curing of vanilla' cité dans la demande voir le document en entier -----	1

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE  
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.**

FR 9200837  
SA 64344

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets. 14/10/92

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR-A-1156084		Aucun	
EP-A-0416713	13-03-91	AU-A- 6338990 WO-A- 9103174 JP-T- 4502863	08-04-91 21-03-91 28-05-92
FR-A-2625750	13-07-89	Aucun	
FR-A-2443265	04-07-80	Aucun	
EP-A-0332281	13-09-89	FR-A- 2628439 AU-B- 618588 AU-A- 3204189 WO-A- 8908404	15-09-89 02-01-92 05-10-89 21-09-89
FR-A-2634979	09-02-90	EP-A- 0354118 US-A- 4956192	07-02-90 11-09-90